

Heterogeneity and progression of renal cell carcinomas as revealed by DNA cytofluorometry and the significance of the presence of polyploid cells

著者	九嶋 麻優美
発行年	1996-09-30
その他の言語のタイトル	顕微蛍光測光法による多倍体細胞の存在の重要性からみた腎細胞癌のheterogeneityと進展 ケンビ ケイコウ ソクコウハウ ニ ヨル タバイタイ サイボウ ノ ソンザイ ノ ジュウヨウセイ カラミタ ジン サイボウ ガン ノ heterogeneity ト シンテン
URL	http://hdl.handle.net/10422/2359

氏名・（本籍）	九 嶋 麻優美（京都府）
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	博士（論）第190号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成8年9月30日
学位論文題目	Heterogeneity and progression of renal cell carcinomas as revealed by DNA cytofluorometry and the significance of the presence of polyploid cells (顕微蛍光測光法による多倍体細胞の存在の重要性からみた腎細胞癌の heterogeneityと進展)

審査委員	主査 教授	挾 間 章 忠
	副査 教授	服 部 隆 則
	副査 教授	友 吉 唯 夫

論文内容の要旨

【目 的】

腎細胞癌の核DNA量の研究においてaneuploid腫瘍の予後は悪いとの報告が多いが、なお議論のあるところである。統一見解に至らない原因として腫瘍内核DNA量のheterogeneityの存在や、測定方法の違いが考えられる。申請者はすでに、同一検体でflow cytometryと顕微蛍光測光法の二方法により核DNA量を測定し検討したところ、腫瘍のdiploid cell lineと多倍体細胞(polyplod cell)の同定において顕微蛍光測光法が優れていることを報告している。この研究では核DNA量のheterogeneityやpolyploid cellの存在に注目し、腎細胞癌の進展との関連について検討した。

【方 法】

46名の腎細胞癌患者から手術的に摘除した51腫瘍のホルマリン固定パラフィンブロック116個を用いた。切片は組織学的所見に注目し169箇所に分した。単離細胞の塗抹標本を作成し、4',6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride染色後、顕微蛍光測光法にて細胞核の種類を鑑別しながら核蛍光強度を測定した。各塗抹標本内に混在する間質細胞を測定し、各検体の2C(diploid, G0/G1)を決定した。

DNA ploidy patternは以下のように決定した。

- (1) G0/G1期細胞集団のピークが1つだけ明瞭に認められるとき、stem cell lineは単一であるとした。ヒストグラム上最大のピークのほかに明らかに分離したピークが存在し、その高さが最大ピークの1/5以上あり、しかもそれに対応するS+G2期の細胞が存在するとき、その標本は最大ピークのほかに別のstem cell lineをもつとした。
- (2) stem cell lineのpeakが $2 \pm 0.2C$ のものをdiploid cell lineとし、diploid cell line単独のヒストグラムをdiploid patternとした。stem cell lineのpeakが $2 \pm 0.2C$ 以外のものをaneuploid cell lineとし、aneuploid cell lineを1つでももつ場合をaneuploid patternとした。(3) DNA量が最も大きいstem cell lineのG2M期より大きいDNA量の細胞をpolyploid cellとした。

以上にしたがい検体・腫瘍の核DNA量と組織学的異型度・TNM分類・stage・腫瘍径・生存率を比較検討した。

【結 果】

169検体中149検体が判定可能で、81検体(54%)がaneuploid patternであった。grade 2はgrade 1と比較し有意にaneuploid patternが多く、gradeが高くなるにしたがいdiploid patternの中でのpolyploid cellの出現が有意に多くなった。

51腫瘍中20腫瘍(39%)がdiploid腫瘍、31腫瘍(61%)がaneuploid腫瘍であった。29腫瘍(57%)に核DNA量のheterogeneityを認め、そのうち27腫瘍はdiploid cell lineをもっていた。51腫瘍中47

腫瘍(92%)がdiploid cell lineをもっていた。組織学的異型度が高くなるにしたがい、aneuploid腫瘍、核DNA量のheterogeneityが有意に増えた。腫瘍径でみると、76mm以上はすべてaneuploid腫瘍であり、101mm以上ではすべて核DNA量のheterogeneityを認めた。またdiploid腫瘍の中では20腫瘍中3腫瘍(15%)がpolyploid cellをもつみだが、diploidとaneuploid cell lineが混在する腫瘍では、16腫瘍中9腫瘍(56%)にdiploidの部分にpolyploid cellを認めた。TNM分類やstageと比較すると、進行するに伴いaneuploid腫瘍、核DNA量のheterogeneityが増加し、diploid腫瘍の中でpolyploid cellをもつものが増加した。

生存率では、aneuploid症例が有意に悪く、polyploid cellをもつdiploid症例をaneuploid症例に加えるとさらに有意差が大きくなった。症例数が多く、多様な転帰をとるgrade 2の症例をdiploidとaneuploid patternに分けると有意差は認めなかったが、polyploid cellをもつdiploid症例をaneuploid症例に含むと有意差が認められた。

【考察と結論】

aneuploid腫瘍の大部分にdiploid cell lineを認めた。またpolyploid cellをもつdiploidの部分の頻度は、diploid腫瘍におけるより、diploidとaneuploid cell lineの混在した腫瘍で多くみられた。また腫瘍の進展につれpolyploid cellをもつdiploid腫瘍やaneuploid腫瘍のしめる割合が多くなった。これより癌がmonoclonalに発生するなら、大部分の腎細胞癌はdiploid腫瘍として発生し、diploid cell lineよりpolyploid cellが発生し、腫瘍が進展するにしたがいpolyploid cellよりaneuploid cell lineが生ずると考えられた。

gradeが高くなるにしたがい、aneuploid cell lineの出現頻度が増えるだけでなく、diploid部分でのpolyploid cellの出現が増え、核DNA量は腫瘍細胞の生物学的悪性度との関係が示唆された。また核DNA量は予後因子となるが、diploid症例のなかでpolyploid cellをもつものをaneuploid症例に含めると生存率にさらに差が認められ、polyploid cellをもつdiploid症例はaneuploid症例と同様にみなし、治療対策を考えていくべきだと思われた。

論文審査の結果の要旨

癌細胞の核DNA量が癌悪性度の客観的指標になりうるため、本研究は腎細胞癌の多くの症例の核DNA量を顕微蛍光測光法を用いて測定し、DNA ploidy patternと病理組織学的悪性指標あるいは臨床的悪性度との対比をおこなったものである。

腎細胞癌の92%の症例がdiploid cell lineをもっていた。diploid症例では、臨床的深達度の高いほどpolyploid cellを有するものを多く認めた。polyploid cellの有無をみると、aneuploid cell lineが混在する腫瘍のほうが、diploidのみの腫瘍よりpolyploid cellを多く有していた。またaneuploidの比率や核DNA量のheterogeneityは腫瘍が進展するにつれて増加した。これらのことから、ほとんどの腎細胞癌がdiploid腫瘍として発生し、進展していく過程にpolyploid cellが出現し、さらにpolyploid cellの中からaneuploid cell lineが生ずると考えられた。

組織学的異型度が高度になるにつれて、aneuploidyの頻度だけでなく、diploidyのなかでpolyploid cellをもつものが増加していた。このことは核DNA量は腫瘍細胞の生物学的悪性度と関係のあることを示唆している。生存率の検討から、polyploid cellを伴うdiploid症例はaneuploid症例と同様に予後が悪く、polyploid cellを伴わないdiploid症例と分けて、治療方針を考えるべきであると考えられた。

本研究は、多くの検体の核DNA量を詳細に調べ、polyploid cellを伴うdiploid patternを検討することにより、腎細胞癌の発生から進展にともなうDNA量の変化の過程を明らかにしており、かつ癌悪性度の客観的指標を確立するという臨床応用の可能性を示すものである。よって、博士(医学)の学位論文として価値あるものと認められる。